

EFFET DE L'APPORT D'UN CONCENTRE PROTEIQUE DE LUZERNE EN TANT QU'ANTIOXYDANT SUR LE STATUT DE DEFENSE ANTI-RADICALAIRE DE POULES PONDEUSES ET SUR LA CONCENTRATION EN VITAMINE E DANS L'ŒUF.

Mulsant Caroline¹, Weissman Delphine¹, Boulenger Guillaume¹, Picard Estelle¹, Leroux Christian¹, Roffidal Lucien¹, Launay Claire¹, Coulmier Didier²

¹INZO° - Rue de l'Eglise - BP500019 - 02407 - CHIERRY

²DESIALIS - Complexe Agricole Mont Bernard - Route de Suippes - 51007 - Châlons en Champagne Cedex,
cmulsant@inzo-net.com

RÉSUMÉ

Ce travail avait pour objectif d'étudier l'effet du PX Agro Master (DESIALIS), en tant qu'antioxydant, sur le potentiel de défense anti-radicalaire de poules pondeuses ainsi que sur le transfert de vitamine E dans l'œuf. Quatre lots, de 24 poules pondeuses de souche commerciale Isa Brown, ont reçu 4 aliments différents sur une période de 25 jours (59 à 62 semaines d'âge): un témoin négatif (10ppm de vitamine E), un témoin positif (110ppm de vitamine E), et deux aliments contenant 2 doses de concentré protéique de luzerne (1% et 5%) et respectivement 14.6ppm et 33ppm de vitamine E. En début et en fin d'essai, des prises de sang ont été réalisées sur 16 poules identifiées par lot afin de mesurer le potentiel de défense anti-radicalaire des poules (Test KRL) et la vitamine E a été dosée dans les œufs. L'apport de 100ppm supplémentaire de vitamine E a limité la perte de défense anti-radicalaire habituellement observée avec l'âge. La différence de temps de demi-hémolyse du sang total entre la fin et le début de l'essai est de 8% (soit -6,9 min) pour le lot Témoin Positif alors qu'elle est de 20% (-15,8min) pour le lot Témoin Négatif. Cet effet est également observé sur les hématies. Le concentré de luzerne, incorporé à 1% ou à 5% a permis, au même niveau que le Témoin Positif, de limiter la perte de défense anti-radicalaire des hématies mais pas du sang total. Les résultats de dosage de la vitamine E dans les œufs ont mis en évidence un effet dose, plus la quantité de vitamine E apportée est importante, plus elle est transférée dans l'œuf. La teneur en vitamine E de l'œuf a ainsi été maximale avec le Témoin Positif. Avec les deux doses de PX, les teneurs ont été intermédiaires. L'incorporation de PX Agro Master à 1% ou à 5%, permet de limiter les pertes de défenses anti-radicalaires des hématies liées au vieillissement des animaux, et d'augmenter l'exportation de vitamine E vers l'œuf. Cette piste est particulièrement intéressante dans un objectif d'amélioration du statut sanitaire du poussin.

ABSTRACT

Effect of supplemental alfalfa concentrate as antioxidant on global potential of laying hens defences against free radicals and on vitamin E content in eggs.

This trial aims at studying the effect of PX Agro Master, a alfalfa concentrate from Desialis used as antioxidant, on the global potential of defences against free radicals in laying hens and on vitamin E transfer in eggs. Four groups of 24 laying hens received experimental diets during 25 days (59 to 62 weeks of age). Negative control group (NC) received a standard diet with 10ppm of vitamin E whereas positive control group (PC) received 110ppm of vitamin E. Antioxidant 1 group (Aox1) and Antioxidant 5 group (Aox5) received respectively 1% and 5% of alfalfa concentrate and respectively 14.6ppm and 33ppm of vitamin E. Blood samples were taken on 16 hens for measurement of global potential of defences against free radicals (KRL test) and eggs were analyzed for vitamin E. These measures were done at the beginning and at the end of the study. Aox1 and Aox2 significantly lowered hemolysis half-life of red blood cells as well as PC. An effect on whole blood was shown just with PC. 110ppm of vitamin E increased the global potential of defences against free radical in hens whereas alfalfa concentrate, at 1% or 5%, protected only red blood cells. Vitamin E content in eggs was maximal with PC. Aox1 and Aox5 led to intermediate levels between NC and PC. Supplementation of 1% or 5% of PX Agro Master restricted the loose of defences against free radicals link to ageing of hens and improved vitamin E transfer in eggs. Health status of chicks could be improved by this way.

INTRODUCTION

Les animaux sont exposés aux phénomènes radicalaires pendant toute leur vie. Ces attaques oxydatives peuvent avoir des conséquences néfastes sur la santé, les performances zootechniques ou encore la qualité des produits (Aurousseau, 2002).

La vitamine E a une action antioxydante au niveau des lipides, elle assure une protection efficace contre la peroxydation des membranes (Rocha et al., 2010). Les caroténoïdes, principaux pigments présents dans la nature, sont également des composés antioxydants qui piègent directement les radicaux oxygénés libres (Aurousseau, 2002).

Le statut de défense anti-radicalaire du poussin est majoritairement déterminé par la composition de l'aliment maternel, ainsi la vitamine E et les caroténoïdes sont transférés de l'aliment dans le jaune d'œuf. Il a été montré qu'une teneur en vitamine E et en caroténoïdes plus élevée dans l'aliment des poules reproductrices induit une augmentation de la concentration dans les œufs, mais également dans le foie des poussins, ces derniers ayant alors un meilleur statut antioxydant (Surai, 2000, 2001; Grobas, 2002; Karadas, 2007).

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet d'une supplémentation en concentré de luzerne, riche en caroténoïdes, sur le potentiel de défense anti-radicalaire des poules. L'intérêt est également de savoir si le fait d'apporter des caroténoïdes pourrait limiter l'utilisation de la vitamine E comme antioxydant et permettre d'augmenter son transfert dans l'œuf.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et dispositif expérimental

Des poules pondeuses de souche commerciale Isa Brown ont été élevées dès 18 semaines d'âge au Centre de Recherches Zootechniques Appliquées de Montfaucon (CRZA, 024007) en cages de 3 poules. Quatre lots ont été réalisés, contenant chacun 8 cages, soit 24 poules. L'étude a duré 25 jours, de 59 à 62 semaines d'âge.

1.2. Composition des aliments

Les animaux ont été nourris à volonté en une seule fois, le matin à 8h, avec un aliment composé principalement de maïs, blé et soja dont les caractéristiques (tableau 1) correspondent aux besoins des animaux sur cette période.

Quatre aliments expérimentaux ont été testés: un Témoin négatif (TN), un Témoin positif (TP) et 2 aliments antioxydants contenant 1% (Aox1) ou 5% (Aox5) de PX AGRO MASTER (DESIALIS), un concentré protéique de luzerne (860ppm de lutéine +

Zéaxanthine, 460ppm de β -carotène, 828ppm de vitamine E). Les 2 aliments Témoin ont été réalisés avec 99% d'un même aliment de base et 1% d'un prémélange spécifique à chaque lot. Les 2 aliments Aox ont été formulés de manière à avoir un profil nutritionnel identique aux Témoins.

L'aliment TN contient 10ppm de vitamine E (sous forme d'acétate d'alpha-tocophérol). L'aliment TP contient 110ppm de vitamine E (sous forme d'acétate d'alpha-tocophérol). Le concentré de luzerne apportant 460ppm de vitamine E, les aliments Aox1 et Aox5 contiennent respectivement 14.6ppm et 33ppm de vitamine E. Les 4 aliments contiennent 0.3ppm de sélénium (sous forme de sélénite de sodium).

Tableau 1. Caractéristiques calculées des 4 aliments expérimentaux (EM: Energie Métabolisable, MAT: Matières Azotées Totales).

	TN	TP	Aox1	Aox5
EM kcal	2680	2680	2680	2679
MAT %	16	16	16	16
Lysine %	0.67	0.67	0.67	0.67
Vitamine E sous forme d'acétate d'alpha-tocophérol (ppm)	10	110	10	10
Vitamine E Totale dans l'aliment (ppm)	10	110	14.6	33

1.3. Performances

Les performances de ponte ainsi que la consommation sont relevées pour chaque lot une fois par semaine. Les conditions d'ambiance de même que les mortalités sont également relevées.

1.4. Dosage de vitamine E dans l'œuf

L'incorporation d'antioxydants dans l'aliment pourrait permettre à l'animal de limiter l'utilisation de vitamine E en tant qu'antioxydant, celle-ci serait alors transférée en plus grande quantité dans le jaune d'œuf. Le dosage de la vitamine E dans l'œuf a pour objectif de savoir si une économie de cette matière première est possible par l'incorporation d'antioxydants dans l'aliment. Le premier jour de l'étude 10 œufs par lot ont été ramassés au hasard et séparés en 2 lots de 5 œufs. La vitamine E a été dosée sur le mélange des deux lots de 5 œufs entiers. La même opération a été répétée le dernier jour de l'étude.

1.5. Mesure de résistance anti-radicalaire du sang

Afin de mesurer l'effet du concentré sur le potentiel de défense anti-radicalaire des animaux, un test KRL a été effectué sur le sang et les hématies des poules. Le principe est de soumettre le sang à un stress oxydatif (UV) qui provoque la lyse des hématies. La résistance du sang à cette attaque radicalaire est fonction du statut antioxydant de l'animal. Le test KRL permet de mesurer le temps au bout duquel 50% des hématies

sont lysées, ce temps augmentant avec les capacités de défenses anti-radicalaires des animaux. Le premier et le dernier jour de l'étude des prises de sang ont été réalisées à l'aile sur 16 poules identifiées par lot. Pour chaque échantillon une analyse KRL sur le sang total et sur les hématies a été réalisée.

1.6. Analyses statistiques des données

Les données de ponte et de consommation n'ont pas été traitées statistiquement car nous ne disposons que d'une donnée par traitement. Pour les teneurs en vitamine E dans l'œuf, seules 2 données sont disponibles par lot, aucun test statistique n'est donc réalisé. La normalité des données KRL a été testée avec un test de Bartlett. Concernant les données de résistance anti-radicalaire du sang total et des hématies, une analyse de la variance avec un test de Student est réalisée sur les données moyennes ainsi que sur les différences entre les temps de demi-hémolyse en début et en fin d'essai.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Aucune poule n'est morte au cours de l'essai. Les performances de ponte, ainsi que les consommations témoignent du bon déroulement de l'essai. Le taux de ponte moyen de l'ensemble des lots est de $88\% \pm 6.7\%$ et le poids moyen global des œufs est de $66g \pm 1.5g$. Les analyses chimiques des aliments ont validé leur conformité.

2.2. Dosage de vitamine E dans l'œuf

En début d'essai, les 4 lots ont une concentration en vitamine E dans l'œuf relativement proche (tableau2). La teneur en vitamine E des œufs du lot TN est restée stable entre le début et la fin de l'essai (1,41 et 1,30mg/100g respectivement). En revanche dans le lot TP, la concentration en vitamine E a été multipliée par 5,5 entre le début (1,40mg/100g) et la fin (7,7mg/100g) ce qui est conforme aux résultats de Surai (2000). Les 2 lots Aox ont des teneurs en vitamine E dans l'œuf plus élevées que celles du lot Témoin négatif, mais inférieures à celles du Témoin positif, ce qui est en accord avec la teneur en vitamine E de l'aliment.

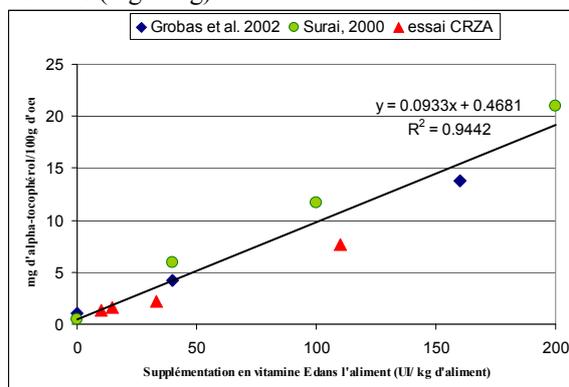
Tableau 2. Concentration en vitamine E moyenne dans les œufs, en début et en fin d'essai (mg/100g).

	Début	Fin
TN	1.41	1.3
TP	1.4	7.7
Aox1%	1.3	1.61
Aox5%	1.08	2.23

Les teneurs observées sont conformes aux valeurs calculées par la loi de transfert déjà établie par INZO^o à partir de la bibliographie et de l'essai (figure 1). Une augmentation de la teneur en vitamine E dans

l'aliment permet une augmentation de la teneur en vitamine E de l'œuf.

Figure 1. Concentration en vitamine E moyenne dans les œufs (mg/100g) de différentes références.



1.3. Mesure de résistance anti-radicalaire du sang

Quel que soit le lot, le temps de demi-hémolyse du sang total diminue entre le début et la fin de l'essai (Tableau 3). Cette diminution témoigne en partie d'une fatigue métabolique des animaux que nous avons déjà observée auparavant, mais également du stress engendré par les prises de sang.

Néanmoins l'apport de 110ppm de vitamine E dans le lot TP a permis de limiter significativement la perte de défenses anti-radicalaires des poules par rapport au lot TN ($P < 0.05$). L'apport de concentré de luzerne à 1% ou à 5% n'a pas permis de limiter cette perte de défense du sang total de manière significative par rapport au lot TN. Cette analyse KRL sur sang total permet de mesurer à la fois les défenses intracellulaires et extracellulaires, tout en tenant compte des effets de synergie entre les deux. La supplémentation en caroténoïdes n'a pas permis d'améliorer la protection globale des poules.

Tableau 3. Différence de temps de demi-hémolyse du sang total et des hématies entre la fin et le début de l'essai (min).

	Sang total	Hématies
TN	-15,8b	-25,1b
TP	-6,7a	-16,3a
Aox1%	-14,8b	-16,3a
Aox5%	-12,3b	-18,3a
P	<0.05	<0.05

a et b: les valeurs portant les mêmes lettres ne diffèrent pas significativement au seuil de 5%.

La variation du temps de demi-hémolyse des hématies entre le début et la fin de l'essai est différente selon les lots (Tableau 3). L'analyse KRL sur hématies permet de connaître l'état des défenses intracellulaires, c'est un reflet historique de l'équilibre entre agressions et défenses de l'organisme sur une période donnée. Ainsi, l'ajout de 110ppm dans le lot TP a permis d'améliorer significativement les défenses

intracellulaires par rapport au lot TN. Les poules du lot TN présentent la plus forte diminution du temps de demi-hémolyse des hématies entre le début et la fin de l'essai, signe d'une diminution des défenses intracellulaires. Contrairement à ce qui a été observé sur le sang total, l'incorporation de 1% ou de 5% de concentré de luzerne a permis de limiter la perte de défenses anti-radicalaire des hématies entre le début et la fin de l'essai par rapport au lot TN ($P < 0.05$). Ces deux aliments apportent moins de vitamine E que le Témoin positif, mais ils ont eu le même effet de protection des hématies. Un effet bénéfique des caroténoïdes présents dans la luzerne sur le statut antioxydant des hématies est à noter.

CONCLUSION

Ce travail a montré que le concentré protéique de luzerne, à 1% ou à 5%, permet d'améliorer le statut antioxydant des hématies. Grâce à un apport supplémentaire de vitamine E par cette matière première, la teneur en vitamine E des œufs a été augmentée entre le début et la fin de l'essai.

Des travaux complémentaires, notamment sur le statut antioxydant de poussins suite à une supplémentation en concentré protéique de luzerne dans l'aliment maternel, permettraient de confirmer l'intérêt du produit dans un objectif d'amélioration du statut sanitaire des poussins.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aurousseau B, 2002. INRA Prod. Anim, (15),67-82.
Grobas S., Mendez J., Lopez Bote C., De Blas C., Mateos G.G., 2002. J. Poult. Sci., 81, 376-381.
Karasdas F., Pappas A., Surai P., Speake B., Coulmier D., 2007. 7ième JRA, 278-282.
Rocha J.S.R., Lara L.J.C., Baião N.C., Vasconcelos R.J.C., Barbosa V.M., Pompeu M.A., Fernader M.N.S., 2010. World's Poult. Sci. J., 66, 261-270.
Surai P.F., 2000. British Poult. Sci., 41, 235-243.
Surai P.F., Speake B.K., Sparks N.H.C., 2001. J. Poult. Sci., 38, 1-27.